Gentechnische Verfahren und immunbiologische Grundlagen am Beispiel einer Viruserkrankung des Menschen

Humane Papillomviren (HPV) sind auf menschliche Schleimhautzellen spezialisiert. Es gibt über 200 verschiedene HPV-Typen, davon werden 40 vor allem bei Intimkontakten übertragen. 25 davon können Feigwarzen verursachen. 15 Typen können bei allen Geschlechtern Krebs auslösen.

Aufgaben

1 Humane Papillomviren nutzen Zellen der menschlichen Haut und der Schleimhäute für ihre Vervielfältigung. Die HPV sind unbehüllte DNA-Viren. Ihr Kapsid setzt sich aus 72 Kapsomeren zusammen. In das Kapsid eingeschlossen ist das Genom aus einem ringförmigen, doppelsträngigen DNA-Molekül aus etwa 8 000 Basenpaaren.

1.1 Neben HPV gibt es sehr viele weitere humanpathogene Viren.
Nennen Sie zwei weitere mögliche Genomorganisationen von Viren.

(2 BE)

1.2 Das Genom von HPV umfasst etwa sechs bis acht Gene.
Erklären Sie die Notwendigkeit der in Material 1 (Abbildung 1.1) angegebenen Genprodukte E1, E2, E4, L1 und L2 für die Virusvermehrung.

(7 BE)

1.3 Die Vermehrung humaner Papillomviren ist eng an den Differenzierungszustand der infizierten menschlichen Epithelzellen gekoppelt (Material 1, Abbildung 1.2).
Überführen Sie die Textbausteine von Material 1 (Abbildung 1.3) zum Vermehrungszyklus von HPV in eine sinnvolle Reihenfolge.

Hinweis: Die Verwendung von a), b), c)… ist ausreichend. Berücksichtigen Sie auch die Informationen aus Abbildung 1.1 und 1.2.

(7 BE)

1.4 Das Protein p53 verhindert die ungehemmte Teilung von Zellen und startet bei irreparabler Schädigung oder Entartung einer Zelle ein zelluläres Selbstmordprogramm.
Erklären Sie die Entwicklung von Gebärmutterhalskrebs durch Infektionen mit HPV mithilfe von Material 1.

(7 BE)

1.5 Der Virologe HARALD ZUR HAUSEN entwickelte in den 1970er Jahren erstmalig die Hypothese, dass Gebärmutterhalskrebs durch das HPV verursacht werden kann. Zur experimentellen Überprüfung dieser Hypothese wandte der Virologe die DNA-Hybridisierung an (Material 2).

1.5.1 Ergänzen Sie die fehlenden Schritte A, B und C der DNA-Hybridisierung in Abbildung 2.1 und begründen Sie die Notwendigkeit aller einzelnen Schritte.

(10 BE)

1.5.2 Analysieren Sie die in Abbildung 2.2 dargestellten Versuchsergebnisse der DNA-Hybridisierung zur Verifizierung oder Falsifizierung der von ZUR HAUSEN entwickelten Hypothese.

(5 BE)

1.6 Mit HPV infizierte Personen bilden Antikörper gegen das Kapsidprotein des Virus.

1.6.1 Antikörper werden durch die Proteinbiosynthese hergestellt.
Beschreiben Sie die Transkription und die mRNA-Prozessierung bei Eukaryoten.

(12 BE)

1.6.2 Beschriften Sie die Abbildung (Material 3).
Nennen und erläutern Sie vier Aufgaben eines Antikörpers.

(10 BE)

1.6.3 Beschreiben und erläutern Sie die spezifisch humorale Immunreaktion bei einer Infektion mit dem Antigen HPV.

(10 BE)

1.7 Seit einigen Jahren können HPV-Kapsidproteine u.a. in Kulturen transgener Hefezellen hergestellt werden. Sie fügen sich durch spontane Selbstorganisation zu virusähnlichen Partikeln (englisch: virus-like particles,VLP) zusammen, die für die Herstellung von Impfseren verwendet werden können. VLPs lösen die gleichen immunologischen Reaktionen wie ein intaktes HPV aus.

1.7.1 Geben Sie die Funktionen der verwendeten Werkzeuge zur Herstellung transgener Hefezellen an: Restriktionsenzyme, Ligasen, den Expressionsvektor (ein Plasmid, welches in Hefen vorkommt).

(6 BE)

1.7.2 Zeigen Sie die Schritte zur Herstellung des rekombinanten Impfstoffes mithilfe transgener Hefezellen durch Identifizierung der reifen mRNA des Kapsids auf und erklären Sie diese.

(16 BE)

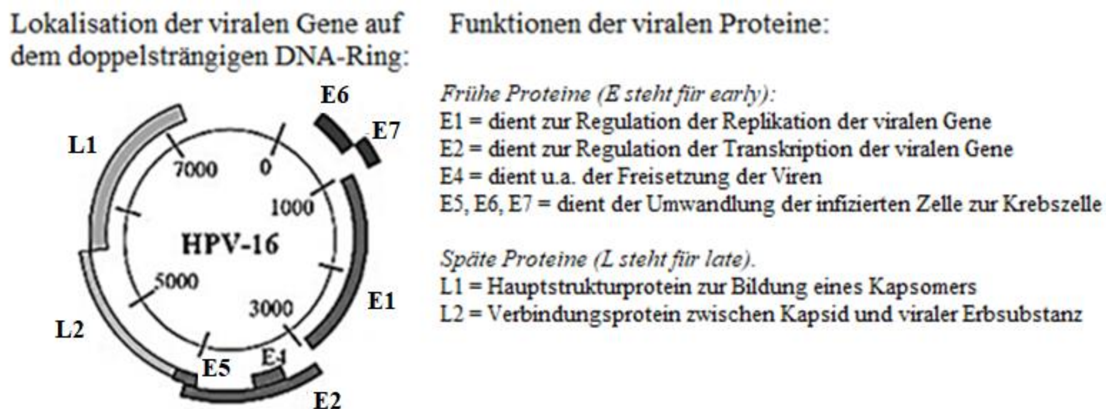
1.7.3 Bei der HPV-Impfung sind mindestens zwei Impfdosen für die Immunisierung notwendig. Skizzieren Sie einen zeitlichen Verlauf der IgG-Antikörperkonzentration jeweils nach der ersten bzw. zweiten Impfdosengabe und begründen Sie den Kurvenverlauf.

(8 BE)

Material 1

Vermehrungszyklus von HPV in menschlichen Epithelzellen

Abbildung 1.1 Erbsubstanz des Hochrisiko-Typs HPV-16

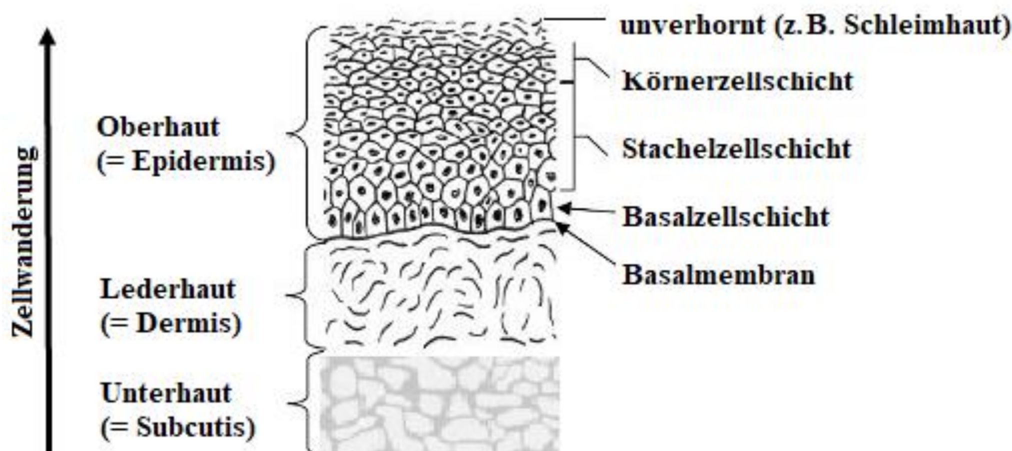


geändert nach: https://lehrerfortbildung-bw.de/u_matnatech/bio/gym/weiteres/fb1/05_material/11ansteckend/ab11/ab11b/ (abgerufen am 21.07.2022).

Hinweis: early (engl.) = früh, late (engl.) = spät

Abbildung 1.2 Aufbau von Haut- und Schleimhäuten

Alle äußeren und inneren Oberflächen des menschlichen Körpers werden durch ein flächenhaft ausgebreitetes, ein- oder mehrschichtiges Gewebe von Epithelzellen abgeschlossen (Haut und Schleimhäute). Die Haut ist aus drei Schichten aufgebaut: Oberhaut, Lederhaut und Unterhaut. Die Epidermis besteht aus der Basalzellschicht, der Stachelzellschicht und der Körnerzellschicht. Hier finden Zellteilungen und damit die Zellbildung statt. Die Zellen wandern im Laufe der Zeit nach oben. Der Differenzierungsgrad nimmt von der Basalzell-, über die Stachelzell-, zur Körnerzellschicht zu. Die Körnerzellschicht bleibt bei Schleimhäuten unverhornt und enthält weiterhin Zellkerne.



geändert nach: https://lehrerfortbildung-bw.de/u_matnatech/bio/gym/weiteres/fb1/05_material/11ansteckend/ab11/ab11a/ (abgerufen am 21.07.2022).

Abbildung 1.3 Der Vermehrungszyklus von HPV

a) In der Körnerzellschicht werden die späten HPV-Proteine hergestellt. Hier finden der Zusammenbau des viralen Kapsids und das Verpacken der viralen Erbsubstanz statt.

b) In der Basalzellschicht werden die frühen HPV-Proteine bereits in geringen Mengen hergestellt. E1 und E2 sind DNA-bindende Proteine, die die Transkription und Replikation des HPV-Genoms regulieren.

c) Aufgrund von Mikroverletzungen wie z. B. Abschürfungen infiziert HPV menschliche Epithelzellen. Nach Bindung der Viruspartikel an Rezeptoren auf der Oberfläche basaler Epithelzellen gelangen die Viren durch Endozytose ins Zellinnere.

d) Nach Teilung und Differenzierung werden in Stachelzellen die frühen HPV-Proteine E6 und E7 verstärkt produziert. E6 und E7 binden und inaktivieren zelluläre Tumorsuppressorproteine wie p53 bzw. pRB, die normalerweise den Zellzyklus kontrollieren oder die Apoptose auslösen.

e) Mit zunehmender Differenzierung von Stachelzellen werden verstärkt die frühen HPV-Proteine E1, E2, E4 und E5 exprimiert. E1 und E2 sorgen für die vermehrte Produktion viraler DNA-Moleküle (Tausende pro Zelle).

f) An der Hautoberfläche werden neu hergestellte HP-Viren zusammen mit toten Hautzellen abgegeben. Die freigesetzten Viruspartikel können einen neuen Vermehrungszyklus starten, indem sie nach einer Übertragung andere Epithelzellen infizieren.

g) Das Kapsid wird entfernt und das virale DNA-Molekül wird in den Zellkern transportiert. 10 – 200 Kopien des viralen Genoms werden erstellt. Sie sind bei gutartigen Tumoren und Krebsvorstufen als DNA-Ringe im Zellkern (sog. extrachromosomale Plasmide), während die HPV-DNA bei bösartigen Tumoren im Genom der Wirtszelle integriert vorliegt.

geändert nach: https://lehrerfortbildung-bw.de/u_matnatech/bio/gym/weiteres/fb1/05_material/11ansteckend/ab11/beiblatt/ (abgerufen am 21.07.2022).

Material 2

DNA-Hybridisierung

Abbildung 2.1 Experimentelles Vorgehen bei der DNA-Hybridisierung

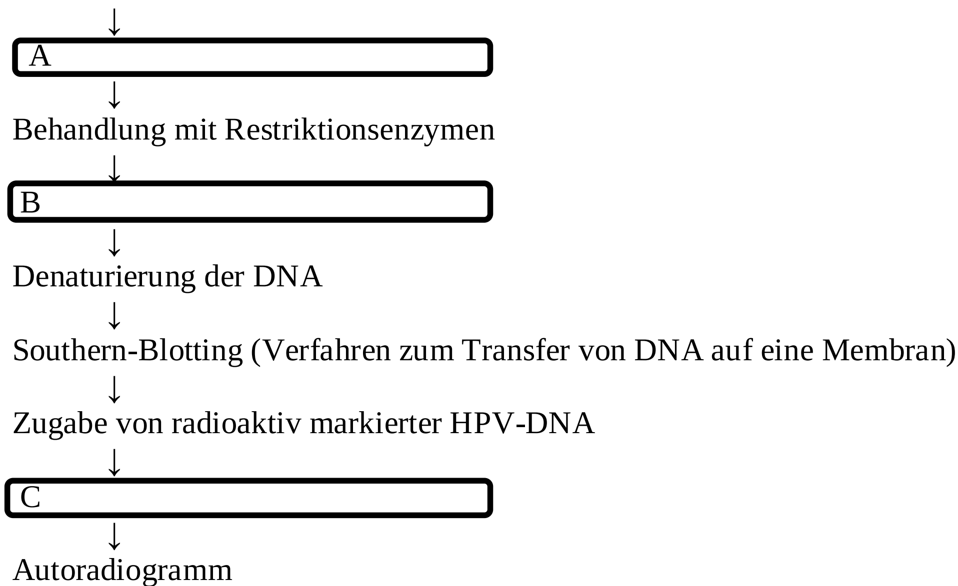
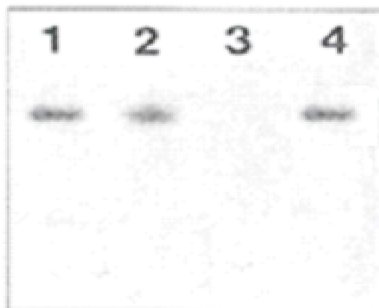


Abbildung 2.2 Ergebnisse der DNA-Hybridisierung

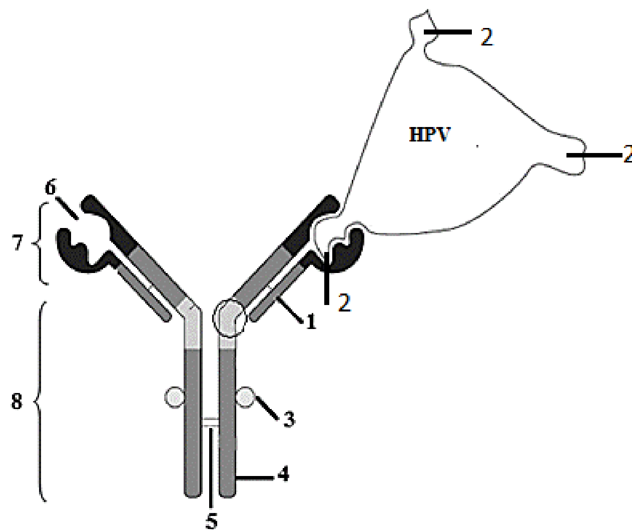


Hinweis:
Probe 1, 2, 4: DNA aus Gebärmutterhalskrebsgewebe
Probe 3: DNA aus anderem Krebsgewebe

geändert nach: Autor unbekannt, Der Nobelpreis für Medizin 2008 – Virenjäger, in: Unterrichts-Materialien Biologie (U2.6.), S. 8.

Material 3

Aufbau eines IgG-Antikörpers gegen HPV



geändert nach: Beyer et al.: Natura Genetik und Immunbiologie Lehrerband, Stuttgart 1. Aufl. 1997, S. 126.